昆虫学报 *Acta Entomologica Sinica*，October 2007，50(10)：1022 – 1026　　ISSN 0454-6296

闹羊花素Ⅲ对斜纹夜蛾细胞系的活性及作用机理

程东美[1,2]**，张志祥**[2]**，胡美英**[2,*]

（1. 仲恺农业技术学院植物保护系，广州 510225；2. 华南农业大学昆虫毒理实验室，广州 510642）

摘要：研究了闹羊花素Ⅲ对斜纹夜蛾 *Spodoptera litura* 离体培养细胞（SL 细胞）的活性，并测定了对 SL 细胞 Na$^+$、K$^+$ 和葡萄糖吸收以及对 4 龄幼虫血细胞数量的影响。结果表明：以 400 μg/mL 和 200 μg/mL 闹羊花素Ⅲ处理 SL 细胞，24 h 后细胞的相对死亡率为 79.00% 和 56.69%，处理后 8 h，16 h，24 h 和 48 h 的 LC$_{50}$ 分别为 240.09 μg/mL，173.45 μg/mL，113.56 μg/mL 和 73.40 μg/mL；闹羊花素Ⅲ处理 SL 细胞后 10 min，细胞对离子的吸收迅速增加，30 min 后吸收作用逐渐减弱；处理后 3 天内细胞对葡萄糖的吸收迅速增加，4～5 天后，细胞对葡萄糖的吸收基本停止。以叶碟法和注射法处理 4 龄幼虫，8 h 后幼虫血细胞数量显著降低，随处理时间增加，幼虫血细胞数量又逐渐增加。

关键词：斜纹夜蛾；闹羊花素Ⅲ；生物活性

中图分类号：Q965　　**文献标识码：**A　　**文章编号：**0454-6296(2007)10-1022-05

Bioactivity of rhodojaponin-Ⅲ on *Spodoptera litura* cells and its mechanism

CHENG Dong-Mei[1,2]，ZHANG Zhi-Xiang[2]，HU Mei-Ying[2,*]（1. Department of Plant Protection，Zhongkai University of Agriculture and Technology，Guangzhou 510225，China；2. Laboratory of Insect Toxicology，South China Agricultural University，Guangzhou 510642，China）

Abstract：Bioactivity and effect of rhodojaponin-Ⅲ on the *Spodoptera litura* cell（SL cell）and cell absorptivity of Na$^+$，K$^+$ and glucose were tested，and the effect on the cell amount of the 4th instar larvae of *S. litura* was also studied. The resulted showed that when treated with 400 μg/mL and 200 μg/mL，the mortalities after 24 h treatment were 79.00% and 56.69%，respectively. The LC$_{50}$ to *S. litura* cell at 8，16，24 and 48 h after treatment were 240.09，173.45，113.56 and 73.40 μg/mL，respectively. Treated with rhodojaponin-Ⅲ，*S. litura* cells started to absorb Na$^+$ and K$^+$ rapidly in no less than 10 min，and 30 min later the absorbability wore off；*S. litura* cells started to absorb glucose rapidly within 3 days，and in 4 – 5 days *S. litura* cells almost stopped uptaking glucose. Treated by leaf disc and injecting，the cell amount of the 4th instar larvae of *S. litura* receded observably，and recovered gradually as the treatment time extended.

Key words：*Spodoptera litura*；rhodojaponin-Ⅲ；bioactivity

闹羊花素Ⅲ（rhodojaponin-Ⅲ，R-Ⅲ）是杀虫植物黄杜鹃的主要活性成分，目前的研究表明，其对草地贪夜蛾 *Spodoptera frugiperda*、二化螟 *Chilo suppressalis*、粘虫 *Leucania separata*、菜粉蝶 *Pieris rapae*、甜菜夜蛾 *Spodoptera exigua*、亚洲玉米螟 *Ostrinia furnacalis*、豇豆荚螟 *Maruca testulalis* 等鳞翅目幼虫，以及节瓜蓟马 *Thrips palmi*、萝卜蚜 *Lipaphis erysim*、稻瘿蚊 *Orseoia oryzae*、马铃薯甲虫 *Leptinotarsa decemlineata*、杂拟谷盗 *Tribolium confusum* 等害虫均有一定的生物活性，对敏感和抗性小菜蛾 *Plutella xylostella* 幼虫的防治效果差异不显著（冯夏和赵善欢，1990a；Klock *et al.*，1991；胡美英和赵善欢，1992；Hu *et al.*，1993；Chiu and Qiu，1993）。冯夏和赵善欢（1990b）研究发现闹羊花素Ⅲ对猫神经纤维上的冲动传导有明显的影响，认为可能影响 Na$^+$、K$^+$ 神经膜上的通过性。本实验研究了闹羊花素Ⅲ对斜纹夜蛾 *Spodoptera litura* 离体培养细胞的活性，及对细胞 Na$^+$、K$^+$ 和葡萄糖吸收的影响，并测试了对活体幼虫血细胞数量的影响，希望从细胞水平上探讨闹羊花素Ⅲ对斜纹夜蛾的活性及作用机制，以

基金项目：国家自然科学基金项目（30671387）；科技部项目（05EFN214400207）

作者简介：程东美，女，1973 年生，讲师，硕士，研究方向为植物源农药，E-mail：zkcdm@163.com

* **通讯作者** Author for correspondence，E-mail：humy@scau.edu.cn

收稿日期 Received：2007-03-29；**接受日期** Accepted：2007-09-05

进一步推动闹羊花素Ⅲ的研究与应用。

1　材料与方法

1.1　材料

1.1.1　试虫及饲养：从广州市郊芋头叶上采回斜纹夜蛾卵块，在养虫室 25℃ ± 1℃饲养至成虫产卵，取生理条件一致的 F_1 代幼虫供试。1～2 龄幼虫以芋头叶饲养，3～6 龄幼虫以木薯叶饲喂。

1.1.2　供试细胞系及培养：斜纹夜蛾细胞（简称 SL 细胞）系中山大学生物防治重点实验室提供的传代细胞系，在 Forma 生产的冷冻式培养箱内培养，培养温度 25℃ ± 1℃，培养基为 Gibco 公司生产的 TC-100 加 10%胎牛血清，细胞以圆形为主。

1.1.3　供试药剂及试剂：川楝素（toosendanin），含量 95%，四川宜宾制药厂；闹羊花素Ⅲ，含量 95%，华南农业大学昆虫毒理研究室胡美英教授提供；MTT（溴化[3-(4,5-二甲基噻唑-2-)-2,5-二苯基]四氮唑）和 SDS（十二烷基磺酸钠）为 Sigma 公司产品。

1.2　方法

1.2.1　闹羊花素Ⅲ对 SL 细胞毒力的测定：（1）溶液的配制：参考周青春等（1995）方法配制 5 mg/mL MTT 母液、3% SDS 异丙醇溶液和药剂母液，所配药液均无菌过滤后置 4℃冰箱备用，且所有配制溶液均在 3 个月内用完。（2）MTT 法细胞毒力测定：于 96 孔培养板中加 100 μL 处于对数生长期的细胞悬浮液（细胞密度约为 1×10^5/mL），待细胞贴壁后，将 96 孔培养板翻转过来，将培养液轻轻倒出，然后分别加入含有川楝素和闹羊花素Ⅲ的培养液，以含有 0.5%丙酮的培养液为对照，于处理后不同时间用 MTT 法（周青春等，1997）测定药液对 SL 细胞的毒力。每处理重复 5 次。

1.2.2　闹羊花素Ⅲ对 SL 细胞 Na^+、K^+ 吸收影响的测定：昆虫细胞平衡液（Puck 's 液）、0.1 mol/L HNO_3 溶液、190 mmol/L 蔗糖溶液以及 100 μg/mL Na^+、K^+ 标准液的配制及实验方法均参照周世力等（1997）。

取浓度为 4×10^5～5×10^5/mL 的细胞悬浮液接种于培养瓶中，每瓶接种 2 mL，培养 24 h，吸去培养基，用 Puck 's 液轻轻洗 1 次，再在每瓶中加入 2 mL Puck 's 液，然后于不同时间加入 0.5 mL 100 μg/mL 的闹羊花素Ⅲ处理液（使每个接种瓶处理液的终浓度为 20 μg/mL），最后吸去 Puck 's 液，用 190 mmol/L 蔗糖等渗液轻轻洗细胞 3 次，吸去等渗液，在细胞单层中加入浓度为 0.1 mol/L 的 HNO_3 溶液 10 mL，处理后 24 h，用超声波发生器处理 10 min，使细胞破碎，用 721 分光光度计测定细胞碎片的 OD_{720} 值，悬液离心（4 000 r/min，10 min），上清液中 Na^+、K^+ 的离子含量用火焰光度计测定。Na^+、K^+ 离子的相对含量为上清液中 Na^+、K^+ 的含量与其相对应的细胞碎片悬液中 OD_{720} 的比值。各处理和对照均重复 3 次。

1.2.3　闹羊花素Ⅲ对 SL 细胞糖吸收影响的测定：（1）试剂配制和标准曲线的绘制参照张国洲等（2000）以及周世力等（1997）方法。（2）糖含量的测定：取几瓶处于对数生长期，生长状态良好的细胞，吸去部分老培养基，加入等体积的新培养基，合并几瓶后接入 24 孔板，每孔 1 mL，培养 24 h，吸去旧培养基，分别加入含有 25 μg/mL 的闹羊花素Ⅲ和川楝素的培养基继续培养，于处理后 1 天、2 天、3 天、4 天、5 天取 24 孔培养板中的培养基 1 mL，加入 6 mol/L 的 HCl 3 mL，沸水中煮 10 min，然后用 6 mol/L 的 NaOH 调至中性，再用双蒸水定容至 10 mL，用滤纸过滤。取滤液 0.1 mL，双蒸水 0.9 mL，参比管用1 mL双蒸水，蒽酮试剂 0.3 mL，浓硫酸 3 mL，混匀后反应 10 min，于 620 nm 波长下测定 OD 值，将 OD 值代入标准方程，求出实测值。SL 细胞培养基中葡萄糖含量（mg/mL）= 实测值 × 稀释倍数。每处理重复 3 次。

1.2.4　闹羊花素Ⅲ对斜纹夜蛾 4 龄幼虫血细胞数量的影响：细胞计数参考陈长琨（1993）方法。从同一卵块孵化出的斜纹夜蛾 4 龄幼虫中挑选出大小一致的个体供试。注射法：用微量点滴仪刺破幼虫的中胸背部节间膜处并注入药液，药液用量为 5 μg/头，处理后用新鲜叶碟喂养；叶碟法：用 50 μg/mL 闹羊花素Ⅲ处理的叶片喂养试虫。于处理 1 h，8 h，16 h，24 h 和 48 h 后用酒精棉球消毒，在幼虫第 2 腹节节间膜处用昆虫针刺破表皮，吸取血淋巴 10 μL，加入已放有 0.39 mL 细胞稀释液的试管中，立即混匀后用血球计数板计算血细胞数。两种方法的对照均以等量丙酮处理，并设未处理幼虫作参照。每处理重复 10 次。

1.3　数据处理

实验数据应用 DPS 数据处理平台（唐启义和冯明光，2002）进行处理。

2　结果与分析

2.1　闹羊花素Ⅲ对 SL 细胞的活性

由表 1 可见，闹羊花素Ⅲ对 SL 细胞具有明显的影响。以 400 μg/mL 浓度处理 24 h，SL 细胞的相对

死亡率为 79.00%；以 200 μg/mL 浓度处理 24 h 时，SL 细胞的死亡率为 56.69%，与 200 μg/mL 川楝素处理后的细胞死亡率（51.94%）无显著性差异。

由表 2 可见，闹羊花素Ⅲ对 SL 细胞的毒杀活性较强，处理后 48 h 的致死中浓度（LC$_{50}$）为 73.39 μg/mL，比川楝素（LC$_{50}$为 159.23 μg/mL）的毒杀作用强。且随处理时间延长，SL 细胞的死亡率增加，LC$_{50}$值逐渐减小，8 h、16 h、24 h 和 48 h 的 LC$_{50}$依次为 240.09 μg/mL、173.45 μg/mL、113.56 μg/mL 和 73.40 μg/mL，说明毒杀作用增强（表 3）。

表 1 闹羊花素Ⅲ对斜纹夜蛾离体培养细胞的活性（24 h）

Table 1 Bioactivity of rhodojaponin-Ⅲ to *Spodoptera litura* cell (24 h)

处理 Treatment	浓度（μg/mL） Concentration	OD$_{570}$均值 Average of OD$_{570}$	调零后 OD$_{570}$值 OD$_{570}$ after emendation	死亡率（%） Mortality
调零		0.025 ± 0.0012 f		
对照 CK		0.421 ± 0.0105 a	0.396	
闹羊花素Ⅲ Rhodojaponin-Ⅲ	400	0.108 ± 0.0105 e	0.083	79.00 a
	200	0.197 ± 0.0075 d	0.172	56.69 b
	100	0.254 ± 0.0180 b	0.229	42.30 c
川楝素 Toosendanin	200	0.215 ± 0.0251 c	0.190	51.94 b

注：表中同列数据后字母相同者，表示在 5%水平上差异不显著（DMRT，$P > 0.05$）。

Notes: Data within a column followed by the same letter are not significantly different at 5% level (DMRT, $P > 0.05$).

表 2 闹羊花素Ⅲ对斜纹夜蛾离体培养细胞的毒力（48 h）

Table 2 Toxicity of rhodojaponin-Ⅲ to *Spodoptera litura* cell (48 h)

处理 Treatment	回归方程 Toxicity regress equation	相关系数 Coefficient correlation	LC$_{50}$ (μg/mL)
闹羊花素Ⅲ Rhodojaponin-Ⅲ	$y = 2.8729 + 1.1401x$	0.9871	73.39
川楝素 Toosendanin	$y = 2.5853 + 1.0966x$	0.9692	159.23

表 3 处理不同时间后闹羊花素Ⅲ对斜纹夜蛾离体培养细胞的毒力

Table 3 Toxicity of rhodojaponin-Ⅲ to *Spodoptera litura* cell

时间 Time (h)	回归方程 Toxicity regress equation	相关系数 Coefficient correlation	LC$_{50}$ (μg/mL)
8	$y = 2.0702 + 1.2308x$	0.9944	240.09
16	$y = 2.7115 + 1.0220x$	0.9966	173.45
24	$y = 2.5224 + 1.2055x$	0.9770	113.56
48	$y = 2.8729 + 1.1401x$	0.9871	73.40

2.2 闹羊花素Ⅲ对 SL 细胞 Na$^+$、K$^+$离子吸收的影响

由图 1 可见，闹羊花素Ⅲ对 SL 细胞的 Na$^+$、K$^+$的吸收有明显的影响。处理后 10 min，SL 细胞 K$^+$的相对含量高达 800，而对照为 100 多；处理后 30 min，SL 细胞对 K$^+$的吸收迅速降低，对照与处理的 SL 细胞中 K$^+$相对含量差异减小，但处理仍然高于对照；50 min 后，对照和处理的 SL 细胞中 K$^+$含量趋近，处理稍高于对照；处理后 70 ~ 90 min，处理和对照 SL 细胞中 K$^+$的相对含量逐渐趋于平衡。

闹羊花素Ⅲ对 SL 细胞的 Na$^+$吸收的影响趋势与 K$^+$相同，在短时间内促进 SL 细胞对 Na$^+$的吸收，随处理时间延长，对离子吸收的促进作用减弱。

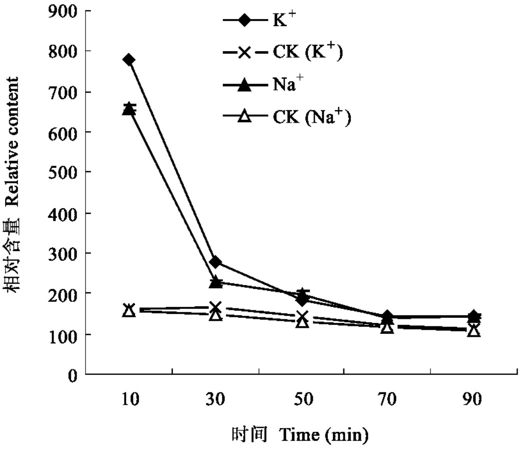

图 1 闹羊花素Ⅲ对斜纹夜蛾离体培养细胞离子吸收的影响

Fig. 1 Effect of rhodojaponin-Ⅲ on ion absorbing of SL cell

2.3 闹羊花素Ⅲ对 SL 细胞中葡萄糖含量的影响

由图 2 可以看出，对照培养液中葡萄糖含量随培养时间的延长而降低，表明细胞生长吸收了一定量的葡萄糖。用 25 μg/mL 闹羊花素Ⅲ和川楝素分别处理后 3 天，细胞培养液中的葡萄糖含量显著低于对照。闹羊花素Ⅲ处理 3 天后，培养液中的葡萄糖含量开始增加，川楝素处理 4 天后葡萄糖含量开始出现上升。结果表明，闹羊花素Ⅲ和川楝素对细胞葡萄糖吸收有明显的抑制作用。

2.4 闹羊花素Ⅲ对斜纹夜蛾幼虫血细胞数量的影响

由表 4 可见：以叶碟法处理斜纹夜蛾 4 龄幼虫

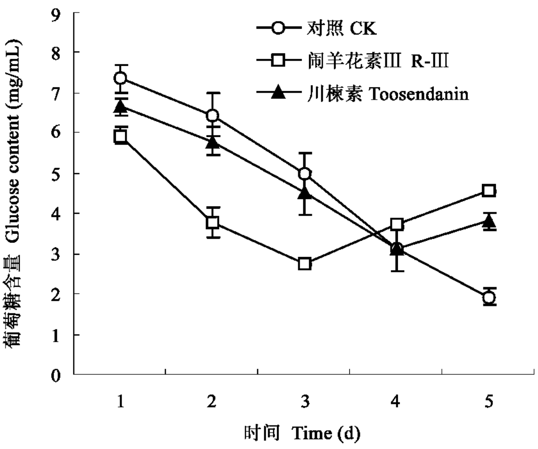

图 2　闹羊花素Ⅲ对斜纹夜蛾离体培养细胞葡萄糖吸收的影响

Fig. 2　Effect of rhodojaponin-Ⅲ on glucose absorbing of SL cell

1 h，正常饲养、处理和对照幼虫的血细胞数量差异不显著；处理后 8 h，正常幼虫与对照幼虫的血细胞数相近，无显著差异，处理幼虫的血细胞数明显降低；处理幼虫 16 h、24 h 和 48 h 的血细胞数均低于正常和对照组的；表明闹羊花素Ⅲ处理后降低了斜纹夜蛾 4 龄幼虫的血细胞总数。

以注射法处理斜纹夜蛾 4 龄幼虫 1 h，处理组和对照组幼虫的血细胞数要明显低于正常幼虫；处理后 8 h，对照与正常饲养幼虫的血细胞总量相近，与处理之间的差异显著。随着处理时间的延长，处理幼虫的血细胞数又向正常水平靠近，16 h 和 24 h 的幼虫血细胞数均比 8 h 时的多，与对照的差异也在变小；但 24 h 和 48 h 时处理幼虫血细胞数之间无差异，且与对照之间的差异也无变化。

表 4 的结果还表明，正常幼虫血细胞数量在 48 h 内无明显差异。对照和处理幼虫血细胞数量在不同时间段内差异显著。

表 4　闹羊花素Ⅲ对斜纹夜蛾 4 龄幼虫血细胞数量的影响

Table 4　Effect of rhodojaponin-Ⅲ on blood corpuscle of 4th-instar larvae of *Spodoptera litura*

方法 Method	时间 Time (h)	血细胞数量 Number of corpuscles (10^5/mL) (± *SE*) 正常 Normal	对照 CK	处理 Treatment
叶碟法 Leaf disc	1	7.24 ± 0.62 a(a)	7.93 ± 0.30 a(a)	6.90 ± 0.95 a(a)
	8	6.54 ± 0.50 a(a)	7.25 ± 0.21 a(ab)	5.11 ± 0.53 b(c)
	16	7.03 ± 0.72 a(a)	6.25 ± 0.07 a(c)	4.76 ± 0.36 b(cd)
	24	6.98 ± 0.56 a(a)	6.32 ± 0.20 a(c)	5.19 ± 0.88 b(c)
	48	6.55 ± 0.20 a(a)	6.34 ± 0.22 a(c)	4.96 ± 0.17 b(cd)
注射法 Injecting	1	7.09 ± 1.02 a(a)	6.02 ± 0.66 b(d)	5.98 ± 0.71 b(b)
	8	6.53 ± 0.58 a(a)	6.59 ± 0.93 a(c)	4.25 ± 0.33 b(d)
	16	7.03 ± 0.39 a(a)	6.02 ± 0.93 b(d)	4.76 ± 0.11 c(d)
	24	6.72 ± 0.87 a(a)	7.12 ± 0.47 a(ab)	5.19 ± 0.36 b(c)
	48	7.34 ± 0.92 a(a)	6.77 ± 0.55 ab(b)	5.28 ± 0.92 b(c)

注：同行数据和同列数据（括号内）后字母相同者，表示在 5% 水平上差异不显著（DMRT，$P > 0.05$）。

Notes：Data within row and column followed by the same letters are not significantly different at 5% level (DMRT，$P > 0.05$).

3　讨论

离体培养细胞为昆虫毒理学的研究提供了理想的体系，以离体细胞为研究对象能够从细胞学的角度来研究杀虫剂的作用机制，国内利用不同品系的昆虫细胞研究了 Bt 晶体毒素的作用机制、抗性发展等，结果与活体昆虫处理的结果相似（洪华珠等，1990；朱天新等，1998），本实验结果也印证了这点。

本研究发现闹羊花素Ⅲ对 SL 细胞有较好的毒杀活性，对幼虫血细胞数量有明显的抑制作用。虽然闹羊花素Ⅲ对昆虫血细胞总数和离体细胞均有抑制作用，但对离体细胞的抑制作用是逐渐增强，而对血细胞数量的抑制在 8 h 后无明显变化（叶碟法）或呈现增加趋势（注射法），说明昆虫个体作为一个生命系统，可以通过有效的生理调节，逐步削弱外来化学物质的抑制作用，离体细胞不具有这个功能，因此，以离体培养细胞作为杀虫剂研究的对象时，仍不能忽略这一点。

已有研究认为闹羊花素Ⅲ可能为一种神经毒剂，陈常英等（1992）认为此类毒素作用于神经钠离子通道受体Ⅱ部位，增加了钠在细胞膜上的渗透性；冯夏和赵善欢（1990）通过研究对哺乳动物猫的神经纤维传导的影响，认为可能是影响 K^+ 和 Na^+ 在神经膜上的通透性。本实验以离体培养细胞为对象，发现闹羊花素Ⅲ处理后，SL 细胞内的 K^+ 和 Na^+ 随时间的增加而明显减少，可能是影响了细胞膜对两种离子的通透性。

对离体细胞的葡萄糖吸收也有明显的抑制作用，而在电镜切片（另文发表）中发现，闹羊花素Ⅲ对离体细胞的细胞膜有直接的破坏作用，可能是由于细胞膜损伤影响了葡萄糖的吸收。

参考文献（References）

Chen CK，1993. Insect Biochemistry Experiment. Beijing：China Agriculture Press. 39 – 47. [陈长琨，1993. 昆虫生理生化实验. 北京：农业出版社. 39 – 47]

Chen CY，Liu ZG，Pan XF，Lian HS，Li YL，Chen CH，1992. The electronic structure and structure-activity relationship of ericaceous toxins. *Acta Chimica Sinica*，50：237 – 243. [陈常英，刘助国，潘心富，连洪寿，李玉林，陈春华，1992. 杜鹃花科植物有毒成分的电子结构及构效关系. 化学学报，50：237 – 243]

Chiu SF，Qiu YT，1993. Experiments on the application of botanical insecticides for the control of diamondback moth in south China. *Journal of Applied Entomology*，116(5)：479 – 486.

Feng X，Chiu SF，1990a. Preliminary studies on the biological activity of extract from *Rhododendron molle* against insect pests and their mode of action. *Journal of South China Agricultural University*，11(2)：68 – 76. [冯夏，赵善欢，1990a. 黄杜鹃提取物对几种害虫的生物活性及其作用机理的初步研究. 华南农业大学学报，11(2)：68 – 76]

Feng X，Chiu SF，1990b. Preliminary studies on the active ingredients and mechanism of *Rhododendron molle*. *Guangdong Agricultural Science*，(3)：40 – 41. [冯夏，赵善欢，1990b. 黄杜鹃有效成分及其作用机理的初步研究. 广东农业科学，(3)：40 – 41]

Hong HZ，Xiao M，Wei L，Guo HS，Chen QH，1990. Comparative study on the cytopathology *in vivo* and *in vitro* infected with crystal toxin of *Bacillus thuringiensis*. *Chinese Journal of Biological Control*，(6)：39 – 42. [洪华珠，肖明，魏林，虢华山，陈曲侯，1990. 苏云金芽孢杆菌晶体毒素感染昆虫离体细胞与活体细胞病理学比较研究. 生物防治通报，(6)：39 – 42]

Hu MY，Chiu SF，1992. Studies on the insecticidal principles and biological activities of yellow azalea，*Rhododendron molle* G. Don. *Journal of South China Agricultural University*，13(3)：9 – 15. [胡美英，赵善欢，1992. 黄杜鹃花杀虫活性成分及其对害虫毒杀作用的研究. 华南农业大学学报，13(3)：9 – 15]

Hu MY，Kolcke JA，Chiu SF，1993. Response of five insects to botanical insecticides，rhodojaponin-Ⅲ. *J. Econ. Entomol.*，86(3)：706 – 711.

Klock JA，Hu MY，Chiu SF，1991. Grayanoid diterpene insect antifeedants and insecticides from *Rhododendron molle*. *Phytochemistry*，30(6)：1 797 – 1 800.

Tang QY，Feng MG，2002. DPS Data Processing System for Practical Statistics. Beijing：Science Press. 188 – 210. [唐启义，冯明光，2002. 实用统计分析及其DPS数据处理系统. 北京：科学出版社. 188 – 210]

Zhang GZ，Wang YW，Xu HH，2000. Physio-biochemical effects on insects by β-sitosterol，daphnoritin and chamechromone. *Journal of Hunan Agricultural University* (*Natural Sciences Edition*)，26(5)：366 – 367. [张国洲，王亚维，徐汉虹，2000. 瑞香狼毒杀虫活性成分对昆虫生理生化的影响. 湖南农业大学学报（自然科学版），26(5)：366 – 367]

Zhou QC，Yang H，Wang H，Hong HZ，1997. Studies on new bioassays for pesticides Ⅱ. The establishment and further development of cytobioassay for insecticide. *Journal of Central China Normal University* (*Natural Sciences Edition*)，31(4)：456 – 458. [周青春，杨红，汪虹，洪华珠，1997. 农药生物测定新方法的研究：Ⅱ. 杀虫剂细胞生测体系的建立及改进. 华中师范大学学报（自然科学版），31(4)：456 – 458]

Zhou QC，Yu ZH，Wang JK，Guo HS，Chen QH，1995. Effects of optunal on ultramicrostructure of *Spodoptera frugiperda* cells. *Journal of Central China Normal University* (*Natural Sciences Edition*)，29(1)：90 – 95. [周青春，余泽华，王家坤，虢华珊，陈曲侯，1995. 水胺硫磷对草地贪夜蛾细胞亚显微结构的影响. 华中师范大学学报（自然科学版），29(1)：90 – 95]

Zhou SL，Hong HZ，Chen QH，1997. Mode of action of *Bacillus thuringensis* γ-endotoxin on insect cells *in vitro*. *Journal of Central China Normal University* (*Natural Sciences Edition*)，31(3)：342 – 344. [周世力，洪华珠，陈曲侯，1997. 苏云金杆菌γ-内毒素对离体昆虫细胞作用机制的研究. 华中师范大学学报（自然科学版），31(3)：342 – 344]

Zhu TX，Yang H，Hong HZ，1998. Studies on the selection and esterase isozymes of an insect cell line resistance to Bt preparation. *Journal of Central China Normal University* (*Natural Sciences Edition*)，32(3)：347 – 351. [朱天新，杨红，洪华珠，1998. 抗Bt制剂昆虫细胞品系的选择及其酯酶同工酶的初步研究. 华中师范大学学报（自然科学版），32(3)：347 – 351]

（责任编辑：黄玲巧）